

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：12401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25410170

研究課題名(和文) 嵩高いシリル基で保護された糖受容体の一段階合成と3位選択的グリコシル化反応の開発

研究課題名(英文) Development of one step synthesis of glycosyl acceptor substituted by overcrowded silyl group and regioselective glycosidation at 3-OH

研究代表者

幡野 健 (HATANO, Ken)

埼玉大学・理工学研究科・准教授

研究者番号：40332316

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：単糖および二糖の水酸基を嵩高いシリル基で複数保護した化合物を一段階反応により、収率よく得ることができた。ラクトースの場合には、シリル化は6, 2', 6' 位の水酸基で起こり、生成物は再結晶にて容易に単離することができた。

シリル化した糖類に対して、グルコース誘導体でグリコシル化反応を行い、単糖のときには3位に、ラクトースのときには3' 位に位置選択的にグリコシル化反応が高効率で起こることを見出した。

研究成果の概要(英文)：Silylation of hydroxyl groups on monosaccharides and lactose were obtained in good yield by one step reaction. In the case of lactose, the silylation occurred on 6, 2' and 6' positions of hydroxyl groups and the trisilylated lactose was able to isolate by recrystallization. Regioselective glycosylation at 3-OH (however 3'-OH in the case of lactose) of the silylated saccharides with a glucose derivative as a glycosyl donor were observed.

研究分野：有機ケイ素化学

キーワード：シリル基 グリコシル化 位置選択的 糖鎖合成

## 1. 研究開始当初の背景

ウイルスや微生物による感染の初期段階では、それらが生体内の細胞表層に存在するオリゴ糖を認識・接着している。現在、この機構を模倣した新薬・医療材料の研究が活発に進められている。しかし、実際に実用化段階まで辿り着いた事例は極めて少ない。その理由の一つに、生理活性なオリゴ糖の合成が煩雑なため、低価格で安定供給できないことがあげられる。

オリゴ糖の化学合成は、糖受容体と糖供与体のグリコシル化反応により行われる。糖受容体は、グリコシル化を受ける水酸基以外の水酸基を化学的に保護するのが定石である。そのため、必然的に糖水酸基の保護・脱保護を繰り返し行うこととなる。例えば、グルコースの C3 位のみ遊離水酸基を残した糖受容体は、5 段階もの反応を要する。また、多くの糖誘導体は結晶性が良くなく、且つ熱的安定性も低いいため、その精製にはシリカゲルカラムクロマトグラフィーが多用され、シリカゲル・溶媒の大量消費と多大な労力がオリゴ糖合成には伴う。これらの問題点がオリゴ糖を低価格で安定供給できない理由と考えられる。

上述のオリゴ糖合成の課題と問題点を踏まえ、我々は簡便なオリゴ糖の合成法の開発を目的として新たな研究をスタートさせた。最近、グルコースの C1 および C6 位の水酸基だけを嵩高いシリル置換基で保護した化合物を糖受容体とした場合、グリコシル化反応が位置選択的に C3 位で起きることを見出した。この糖受容体は、無保護のグルコースから一段階のシリル化反応により良好な収率で得られる。これは従来法に比べ、糖鎖受容体の合成反応数の大幅削減となっている。更に、この合成の簡便さとグリコシル化位置選択性は、グルコースのみならず、ガラクトース、ラクトースを基質として用いた場合でも同様であった。

## 2. 研究の目的

本研究では、市販の無保護糖から一段階の反応により、オリゴ糖合成には不可欠な糖受容体を合成する方法を提案し、この糖受容体が C3 位特異的グリコシル化反応(糖受容体と糖供与体の縮合反応)に有用であることをオリゴ糖合成を通して立証する。ここで提案する糖受容体は、無保護糖の一部の水酸基を新規な嵩高いシリル基で保護しただけの化合物であり、短時間・低コストに合成できる。この嵩高いシリル基は、その隣接する遊離の水酸基までも立体的に保護する効果があり、この糖受容体を用いたグリコシル化反応は、立体的に最も空いている C3 位の水酸基で特異的に進行する。

C3 位にグリコシル化反応を受ける糖受容体の簡便な合成法として、本方法の汎用性と有用性を実証する。更に、糖誘導体の精製過程の簡素化(再結晶)を目指し、近接水酸基を立体的に保護しつつ、結晶性の良好な置換基の探索を行う。

## 3. 研究の方法

ケンブリッジ結晶構造データベースおよび理論計算を駆使し、結晶性と高い立体保護能力を併せ持つ嵩高いシリル保護基を探索する。これを各種無保護糖に導入し、糖受容体を合成する。その糖受容体と様々な糖供与体とのグリコシル化反応を行い、C3 位への位置選択性、立体選択性、結晶性を調査する。さらに、本方法を生理活性オリゴ糖合成に応用し、実際に合成時間短縮・コスト削減・廃棄物削減が達成できることを実験的に裏付ける。そのため、以下を本研究の目標に定めた。

- (1) 近接糖水酸基を立体的に保護でき、結晶性が向上するケイ素置換基の探索
- (2) 購入可能な単糖、二糖の一段階シリル化反応とその最適化

- (3) 様々な糖供与体とのグリコシル化反応における位置および立体選択性の調査
- (4) 本方法を利用した生理活性オリゴ糖合成および従来法との比較

#### 4. 研究成果

水酸基の保護基として用いた時に、その糖誘導体の結晶性を向上させる新しい高結晶性の高いシリル基の探索を行った。ケイ素保護基のケイ素と糖水酸基の酸素との結合 (Si-O) は、酸もしくは塩基により解離する。有機合成などで良く使用されているケイ素保護基については、酸、塩基に対する安定性の序列がそれぞれ報告されている。しかし、原料が市販されていないケイ素置換基については、その安定性は未知である。そこで、25年度には酸、塩基いずれにも安定性の高いことが知られている *t*-ブチルジフェニルシリル基 [-Si<sup>t</sup>BuPh<sub>2</sub>] をリード化合物として、ケンブリッジ結晶構造データベース、理論計算の結果を参考に隣接水酸基の速度論的保護および糖誘導体の結晶性向上を達成する新規ケイ素置換基の探索を行った。

ケイ素上のアリール基には、3,5-ジ(*t*-ブチル)フェニル基 [Dbp]、3,5-ジ(*i*-プロピル)フェニル基 [Dip]、3,5-ジメチルフェニル基 [Xyl]、2,4,6-トリ(*t*-ブチル)フェニル基 [Tip]、4-メトキシフェニル基 [Ans] の計 5 種類を使用した。また、アルキル置換基には、*t*-ブチル基 [tBu]、*i*-プロピル基 [iPr]、メチル基 [Me] の三種類を使い、それらの両方の組み合わせでできるシリル基を新たに 8 種合成した。

アノマーベンジル置換したグルコースに新規シリル基を C6 位水酸基に導入し、これに対してアノマーをイミデート置換したグルコース(1)を用いてグリコシル化反応を実施した。その結果、-Si<sup>t</sup>Bu(Db<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 基で置換されたグルコースの場合、グルコシル化生成物の収量が 86%、C3 位選択性 70%と最も隣接

水酸基の速度論的保護効果が高いことが判明した。

続いて、-Si<sup>t</sup>Bu(Db<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 基を無保護のグルコースに 2 個 (C1、C6 位) に導入することを検討した。シリル化条件を種々検討したが、この -Si<sup>t</sup>Bu(Db<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 基はその嵩高さゆえに、グルコースの C1 および C6 位に 2 つ導入することは困難であることが分かった。そこで、-Si<sup>t</sup>Bu(Db<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 基よりもアリール基が立体的に嵩高くない -Si<sup>t</sup>BuPh<sub>2</sub> を用い、無保護のグルコースに導入したところ、期待どおり C1 および C6 位にシリル基が導入されたグルコース誘導体(2)が 40%の収率で得られた。

このグルコース(2)を受容体、前述のグルコース(1)を供与体として用いたグリコシル化反応では、グリコシル化した 2 糖が 97%の高収率で得られ、更に C3 位への選択性が 90%と極めて高いことが判明した。定法では、C3 位へグリコシル化を受けるようにするためには、無保護のグルコースから、5 段階の保護・脱保護反応を繰り返し行わなければならないことが報告されている (OS, 1955, coll. Vol. 3, p. 11)。これに比べ、本研究で実施したジシリル化グルコース受容体(2)は、無保護のグルコースから一段階の反応により容易に得られ、かつ高収率・高位置選択的に C3 位にグリコシル化生成物を与える。その結果、C3 位グリコシル化受容体の合成に関わる試薬、溶媒、時間、コストの軽減を達成することになった。現在、他の単糖 (ガラクトース、*N*-アセチルガラクトサミン、マンノース) でも一段階ジシリル化反応およびその C3 位位置選択的グリコシル化反応を検討しているところである。これらの単糖は、いずれも反応性の低いアキシャル水酸基や *N*-アセチル基が C2 位や C4 位にあるため、グルコース受容体(2)よりも C3 位へのグリコシル化選択性が向上すると予想される。

次に、容易に入手可能な 2 糖のラクトースに対して同様の実験を行った。無保護のラク

トースを  $\text{CISi}^t\text{Bu}(\text{Dbp})_2$  と反応させると、C1,6,6'位がシリル化されたシリル化ラクトース(3)が主生成物として生成した。反応混合物からはメタノールによる再結晶により、目的とする3が収率36%で容易に単離することができた。これは、嵩高いシリル基による結晶性の向上に起因していると考えられる。さらに、ラクトース受容体(3)と前述のグルコース供与体(1)を用いたグリコシル化反応を行ったところ、収率47%でC3'-グリコシル化生成物が得られた。この時、その他の無保護の水酸基へのグリコシル化は一切進行せず、100%の位置選択性でグリコシル化はC3'位に起こった。C3'位にグリコシル化を受けるラクトース受容体は、定法では7段階の保護・脱保護を繰り返し行う必要がある(J. Carbohydr. Chem., 1989, Vol. 8, p. 145)。しかし、トリシリルラクトース受容体(3)の方が一段階反応により簡便に合成でき、単離も再結晶で得られ、工業的な生産考えれば、棄物、生産時間、コストの面から、本方法の方が産業廃優れていると評価できる。この結果を受け、インフルエンザウイルス表面にあるヘマグルチニン結合性の糖鎖であるシアリルラクトース(Neu5Ac $\alpha$ 2-3Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ )をラクトース受容体(3)から合成することを検討した。

トリシリルラクトース(3)とシアリル酸アノマーイミデート体(4)をNIS/TfOH/MS4Aを用いてグリコシル化反応を行った。反応条件を検討した結果、溶媒にはアセトニトリルとジクロロメタンの1:1混合溶媒を用いると、グリコシル化反応の選択性が向上することが分かった。単離収率21%で目的とするシアリルラクトース誘導体を得ることができた。その他の副生成物として、シアリルラクトースの立体異性体(3%)、グリコシル化反応がC2位で起きた構造異性体(34%)が得られた。シアリル酸供与体(4)の反応中間体は、反応中心となるアノマー位の隣りのC3位に

置換基がないため、隣接基効果が期待できないこと、グルコース供与体の反応中間体と比べ立体的な嵩高さが減っているために、他のグリコシル化反応とは異なり副生成物ができたと考えている。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計7件)

- 1) R. Ito, T. Matsumoto, R. Konose, T. Koyama, K. Matsuoka, K. Hatano, "Regioselective glycosylation with silylated saccharide", CEMS International Symposium on Supramolecular Chemistry and Functional Materials 2016 東京大学伊藤国際学術研究センター(東京都文京区)
- 2) 松本拓磨、伊藤 諒、神瀬龍平、小山哲夫、松岡浩司、幡野 健、"嵩高いケイ素置換基を保護基として用いたオリゴ糖合成"、日本化学会 第95春季年会、2PA-165、2015年3月26~29日、日本大学 理工学部船橋キャンパス (千葉県船橋市)
- 3) 伊藤 諒・松本 拓磨・神瀬 龍平・小山 哲夫・松岡 浩司・幡野 健、"ケイ素保護糖受容体の位置選択的グリコシル化"、日本化学会 第95春季年会、2J2-30、2015年3月26~29日、日本大学 理工学部船橋キャンパス (千葉県船橋市)
- 4) T. Matsumoto, R. Ito, R. Konose, T. Koyama, K. Matsuoka, K. Hatano, "Oligosaccharides synthesis using silicon bulky protecting group", 2015 環太平洋国際化学会議 (PACIFICHEM 2015),

2015 年 12 月 15 ~ 21 日 (Honolulu, Hawaii, USA)

5) 伊藤 諒、松本拓磨、神瀬龍平、小山哲夫、松岡浩司、幡野 健、“嵩高いケイ素保護基を用いた糖鎖合成”、第 18 回ケイ素化学協会シンポジウム、P08、2014 年 10 月 17~18 日、 リゾートホテルラフォーレ那須 (栃木県那須郡那須町)

6) R. Konose, N. Takahata, K. Matsuoka, K. Hatano, "Regioselective glycosylation of 2,3,4-triols of mannoside and galactoside acceptors", The International Conference on Heteroatom Chemistry (ICHAC-10), PA-49, 2013 年 5 月 20 ~ 25 日、 京都大学宇治キャンパス(京都府宇治市)

7) 神瀬龍平、高畑徳允、小山哲夫、松岡浩司、幡野 健、第 17 回ケイ素化学協会シンポジウム、P009、2013 年 10 月 25 ~ 26 日、箱根湯元温泉ホテルおかだ (神奈川県足柄下郡箱根湯元)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.saitama-u.ac.jp/coic/>

## 6 . 研究組織

(1)研究代表者 幡野 健 (HATANO, Ken)

埼玉大学・理工学研究科・准教授

研究者番号 : 4 0 3 3 2 3 1 6

(2)研究分担者

( )

研究者番号 :

(3)連携研究者

( )

研究者番号 :